

环介导等温扩增技术快速检测植物蛋白饮料中大豆成分

肖 剑, 梁美丹*, 孙雪奇, 尹玮璐, 林秀敏, 蒋佳希

(广州市食品检验所, 广州 511400)

摘要: **目的** 建立环介导等温扩增法(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)快速检测植物蛋白饮料中大豆成分的技术方法。**方法** 根据大豆 *Lectin* 基因保守序列, 设计大豆成分环介导等温扩增检测特异性引物和反应体系, 对方法特异性、灵敏度和稳定性进行测试, 并以实时荧光聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)方法为参比方法, 对 32 种植物蛋白饮料进行检测应用验证。**结果** 本研究建立的 LAMP 方法特异性强, 32 种植物成分中除了大豆外, 其他均未发生扩增, 稳定性好, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 6.05%, 最低检出限为 0.1%(以质量分数计)。通过参比方法验证, 方法特异性和灵敏度为 100%, 不存在假阳性和假阴性。**结论** 本研究建立的 LAMP 技术快速检测植物蛋白饮料大豆成分的方法具有操作简单、快速准确、检测成本低等优点, 可为植物蛋白饮料大豆成分掺杂掺假提供一种快速检测方法。

关键词: 环介导等温扩增法; 植物蛋白饮料; 大豆成分

Rapid detection of soybean components in vegetable protein beverages by loop-mediated isothermal amplification

XIAO Jian, LIANG Mei-Dan*, SUN Xue-Qi, YIN Wei-Lu, LIN Xiu-Min, JIANG Jia-Xi

(Guangzhou Institute of Food Inspection, Guangzhou 511400, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid method for soybean components in vegetable protein beverages by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). **Methods** According to the conservative sequence of soybean *Lectin* gene, the specific primers and reaction system for loop-mediated isothermal amplification of soybean components were designed to test the method specificity, sensitivity and stability, and the real-time fluorescent polymerase chain reaction (PCR) method was used as the reference method for the detection and application verification of 32 vegetable protein beverages. **Results** The LAMP method established in this study was specific, and none of the 32 plants components except soybean was amplified, and the stability of the LAMP method was good, with the relative standard deviation (RSD) of 6.05% and the minimum detection limit of 0.1% (by mass fraction). The specificity and sensitivity of the method were 100% as verified by the reference method, and there were no false positives and false negatives. **Conclusion** The LAMP technology established in this study has the advantages of simple operation, rapidity and accuracy, low detection cost, and can provide a rapid detection method

基金项目: 国家市场监督管理总局科技计划项目(2019MK090)

Fund: Supported by the Science and Technology Project of State Administration for Market Regulation (2019MK090)

*通信作者: 梁美丹, 工程师, 主要研究方向为食品微生物及分子生物学检测技术。E-mail: meidanamy@126.com

*Corresponding author: LIANG Mei-Dan, Engineer, Guangzhou Institute of Food Inspection, Guangzhou 511400, China. E-mail: meidanamy@126.com

for adulteration of soybean components in vegetable protein beverages.

KEY WORDS: lood-mediated isothermal amplification; vegetable protein beverages; soybean components

0 引言

植物蛋白饮料是以植物果仁、果肉等为原料(如大豆、花生、杏仁、核桃仁、椰子等)加工制成的饮料,其具有不含或含较少的胆固醇、富含蛋白质、氨基酸及适量的不饱和脂肪酸、营养成分较全等特点,深受广大消费者喜爱^[1-2]。随着植物蛋白饮料原料价格的上涨,部分生产企业为谋取私利,采用价格低廉的大豆为材料仿造核桃乳/杏仁乳等植物蛋白饮料^[3],并以低价抢占市场。这种行为严重扰乱了饮料市场行业的秩序,也会对大豆过敏的消费者产生危害^[4]。目前,针对植物蛋白饮料大豆成分检测的方法,成熟运用的有实时荧光聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)、数字 PCR 技术及新型质谱技术^[5-7]等,由于植物蛋白饮料在市场上流通量大,上述检测技术主要针对应用于实验室定性或定量的检测,检测时间长且需要高端、昂贵的仪器设备,对操作人员要求较高。

环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)最早是日本学者在《Nucleic Acids Res》公开的一种适用于基因诊断的恒温核酸扩增技术^[8],该技术主要原理是利用具有链置换特异性的 *Bst* DNA 聚合酶和 4~6 条能够特异性识别靶标序列上多个特异性区域的引物,开启循环链置换反应,从而实现等温条件下的连续快速反应^[9],因此,该技术具有特异性强、灵敏度高、检测成本低、所需设备及人员要求不高、操作简单、反应时间短等优点,适合现场大批量样本快速检测。该方法已广泛应用在肉类成分检测^[10-11]、转基因成分检测^[12-13]、致病性微生物检测^[14-16]、过敏源检测^[17]等领域中,但目前应用于植物蛋白饮料检测方面的研究较少。本研究利用 LAMP 技术,根据大豆 *Lectin* 保守基因,设计特异性检测引物,建立快速检测植物蛋白饮料中大豆成分的方法,实现植物蛋白饮料大豆成分的快速检测,为抵制植物蛋白饮料行业掺杂掺假等问题提供高效的检测方法,为国家食品安全监管监测提供强有力的技术支持。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

样本:黄大豆、榛子、芝麻、杏仁、核桃、花生、玉米、椰子、绿豆、黑大豆、红豆、糯米、小米、荞麦、燕麦、葵花籽、开心果、腰果、板栗、碧根果、松子、巴旦木、莲子、无花果、夏威夷果、红香米、黑香米、薏米、白眉豆、红腰豆、赤小豆、西瓜籽、红枣 33 种植物成分购于当地超市;32 个植物蛋白饮料(标签声称含有大豆成分的有 11 个)购于京东超市。

试剂: *Bst* DNA 聚合酶、2×反应预混液、密封液、荧光染料(广州市双螺旋生物有限公司); DNA 提取试剂盒(德国 QIAGEN 公司);引物由北京六合华大基因生物公司合成。

1.2 仪器与设备

NANODROP ONE 超微量紫外分光光度计、II 级 A2 型 1376 生物安全柜(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 1-14K 高速冷冻离心机(德国 Sigma-aldrich 公司); CFX96 Touch 实时荧光 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司); HDTC-100 恒温金属浴(上海汉诺仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 引物设计与合成

选取大豆的 *Lectin* 基因在 NCBI 上进行 blast 比对,确定大豆 *Lectin* 基因(NC_038242.1)为保守序列,使用软件 Primer Explorer Version 4 设计 LAMP 引物,引物包括两条外引物 F3、B3,两条内引物 FIB、FIP,1 条环引物 LB,设计完成后将序列交由北京六合华大基因公司合成,纯化方式为高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)。引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

引物名称	序列(5'-3')
soybean-F3	GGCAAATAATATGATACCTGAACT
soybean-B3	AGAGTGAAAAGCTACCCAAT
soybean-FIP	GAGTACCAAAGCTTGCAAATGCGCACTTA CATTGTCAACAAGG
soybean-BIP	AGGAGGTAGTTGTCAGAATTTTCTTAGA GTTTACCTCAGAAACTATCG
soybean-LB	AGAGGAAACTGCCATGCACC

1.3.2 DNA 模板的制备

豆类及坚果类样品先用研磨机打碎,称取适量样品在液氮条件下研磨,参考 QIAGEN 植物 DNA 提取试剂盒进行基因组 DNA 提取;植物蛋白饮料取样 0.5 mL,按照磁珠提取法进行基因组 DNA 的提取^[18]。

1.3.3 LAMP 反应体系的构建

LAMP 反应体系为 25 μ L,包括 2×反应预混液 12.5 μ L、*Bst* DNA 聚合酶 1 μ L、荧光染料 0.5 μ L、FIP 1.6 μ mol/L、BIP 1.6 μ mol/L、F3 0.2 μ mol/L、B3 0.2 μ mol/L、LB 0.8 μ mol/L、DNA 2 μ L,补水至 25 μ L,每个反应孔加入 20 μ L 无菌石蜡油进行密封。分别以 ddH₂O、空白提取对照为阴性对照,黄大豆为阳性对照进行特异性引物筛选。使用

Bio-Rad 实时荧光 PCR 仪进行 LAMP 恒温扩增, 设置程序为 63 °C 30 s 之后 63 °C 15 s, 63 °C 45 s 共 45 个循环。

1.3.4 大豆成分 LAMP 特异性检测

按照 1.3.3 建立的 LAMP 反应体系, 以黄豆 DNA 为阳性对照, 以 ddH₂O、空白提取对照为阴性对照, 以榛子、芝麻、杏仁、核桃、花生、玉米、椰子、绿豆、黑大豆、红豆、糯米、小米、荞麦、燕麦、葵花籽、开心果、腰果、板栗、碧根果、松子、巴旦木、莲子、无花果、夏威夷果、红香米、黑香米、薏米、白眉豆、红腰豆、赤小豆、西瓜籽、红枣 32 种植物成分作为特异性实验模板, 用于验证该方法的特异性。

1.3.5 大豆成分 LAMP 引物灵敏度实验

以绿豆为基质, 选择制备不同大豆质量分数的混合样品(50.0%、10.0%、1.0%、0.5%、0.1%), 同时将 0.1% 混合样品提取的 DNA 稀释 10 倍, 按照 1.3.3 反应体系及程序进行扩增, 确定该方法的灵敏度。

1.3.6 大豆成分 LAMP 稳定性实验

以大豆最低检出限的浓度进行 10 次平行实验, 按照 1.3.3 反应体系及程序进行 LAMP 恒温扩增, 以验证该方法的稳定性。

1.3.7 植物蛋白饮料中大豆成分 LAMP 检测

对市场上销售的植物蛋白饮品进行 LAMP 恒温扩增, 并将实时荧光 PCR 方法作为对比, 综合评价植物蛋白饮料中大豆成分 LAMP 检测方法的灵敏度、特异性、假阴性率、假阳性率和准确度, 根据方法确认性能指标要求^[19]: 灵敏度 ≥ 98%, 特异性 ≥ 90.4%, 假阴性率 ≥ 2%, 假阳性率 ≥ 9.6%, 准确度 ≥ 94%, 显著性差异卡方值 < 3.84, 具体统计学表示方法见表 2, 相关计算方法如公式(1)~(5)所示:

$$\text{灵敏度} = A / (A + C) * 100\% \quad (1)$$

$$\text{特异性} = D / (B + D) * 100\% \quad (2)$$

$$\text{准确度} = (A + D) / N * 100\% \quad (3)$$

$$\text{假阴性率} = (1 - \text{灵敏度}) * 100\% \quad (4)$$

$$\text{假阳性率} = (1 - \text{特异性}) * 100\% \quad (5)$$

A—待确认方法和参考方法均为阳性的数量;

B—参考方法为阴性的样品中, 待确认方法认为阳性的数量;

C—参考方法为阳性的样品中, 待确认方法认为阴性的数量;

D—待确认方法和参考方法均确认为阴性的数量;

N—ABCD 总和。

2 结果与分析

2.1 大豆成分 LAMP 扩增特异性检测结果

本研究采用 32 种不同的植物种子, 按照设计的 LAMP 引物和构建的反应体系, 在 63 °C 温度条件下进行大豆 LAMP 恒温扩增, 检测结果见图 1。结果表明黄豆

和黑大豆能扩增出明显的 S 型曲线, 其余 31 种植物包括绿豆、红豆等杂豆类, 榛子、杏仁核桃等干果类, 糯米、小米等粮食作物及其他成分均未发生扩增, 表明该大豆成分恒温检测方法的特异性良好。黑大豆是豆科大豆属植物大豆的黑色种子, 本检测方法能同时检测出黄豆和黑大豆成分, 与魏晓璐等^[20]研究使用荧光 PCR 方法检测大豆成分结果一致。

表 2 统计分析结果

Table 2 Results of statistical analysis

待确认方法	参考方法		合计
	阳性	阴性	
阳性	A	B	A+B
阴性	C	D	C+D
合计	A+C	B+D	N=A+B+C+D

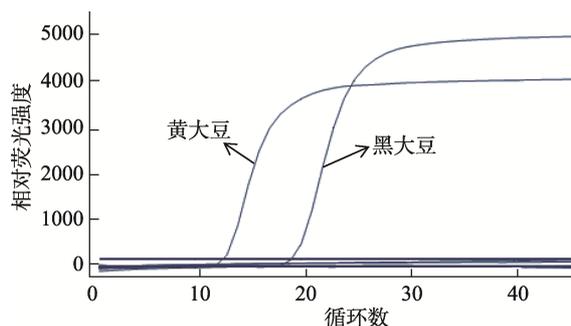


图 1 大豆成分特异性检测 LAMP 扩增结果

Fig.1 LAMP amplification result of soybean component specificity detection

2.2 大豆成分 LAMP 扩增灵敏度实验

以绿豆粉为基质, 选取一定质量的黄豆粉, 分别制备 50.0%、10.0%、1.0%、0.5%、0.1% 质量分数的大豆混合样品, 按照上述要求提取 DNA, 同时将 0.1% 混合样品提取的 DNA 稀释 10 倍, 同时进行 LAMP 扩增, 结果详见图 2。结果显示, 50.0%、10.0%、1.0%、0.5% 质量分数的大豆混合样品获得较好扩增结果, 0.1% 样品循环阈值 (cycle threshold, Ct) 为 20.22, 仍有较好的扩增结果, 0.1% 样品提取 DNA 稀释 10 倍的样本未获得 S 型扩增曲线, 因此, 大豆成分的 LAMP 检测灵敏度可定为 0.1% (以质量分数计)。本研究以实际植物种子粉碎后按比例进行均匀混合, 但对于 0.01% 的较小质量分数的固体样本, 混合均匀的难度较大, 因此, 选择对 0.1% 混合样本提取 DNA 进行稀释处理, 更加符合检测实际。以质量分数进行灵敏度的测试更加准确反映检测技术的技术指标, 相对于直接对 DNA 进行稀释, 方法考虑了 DNA 提取质量的影响, 且更能直接反映出对应产品中成分的含量。

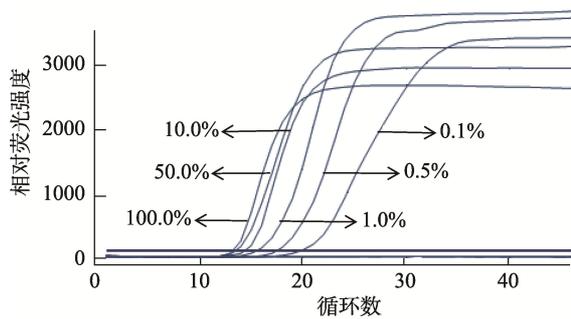


图 2 大豆成分 LAMP 检测灵敏度结果

Fig.2 Result of LAMP detection sensitivity for soybean components

2.3 大豆成分 LAMP 扩增稳定性实验

本方法选择大豆成分 0.1% 的样品 DNA, 对方法检测最低灵敏度附近的成分含量提取 DNA, 并进行 10 次重复 LAMP 扩增, 结果见图 3。10 次结果 Ct 值在 17.37~20.63 范围, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 6.05%, 扩增效果良好, 说明该方法具有较好的稳定性。

2.4 植物蛋白饮料样本检测

采用本研究建立的 LAMP 荧光扩增和实时荧光定量 PCR 2 种方法分别对市场上销售的 32 个不同植物蛋白饮料进行比较检测, 结果见表 3。32 个植物蛋白饮料中有 12

个样本检出有大豆成分, 标签标识有大豆成分的 11 个样本均有检出, 有 1 个未标识有大豆成分样本也检出大豆成分; 2 种方法检测结果完全一致。以实时荧光定量 PCR 为标准参比方法, 按照方法确认统计技术, 依据表 4 统计结果进行计算, 本研究建立的植物蛋白饮料大豆成分 LAMP 荧光扩增方法灵敏度为 100%, 特异性为 100%, 假阳性率和假阴性率均为 0, 与实时荧光定量 PCR 检测结果的符合性为 100%。由结果可以看出, 本方法和参比方法检测结果完全一致, 准确度较高。对于 1 个未标识有大豆成分样本也检出大豆成分, 可能是产品掺杂有大豆成分但未标识, 或者是样品在生产加工的过程中受到大豆原料的污染而被检出。

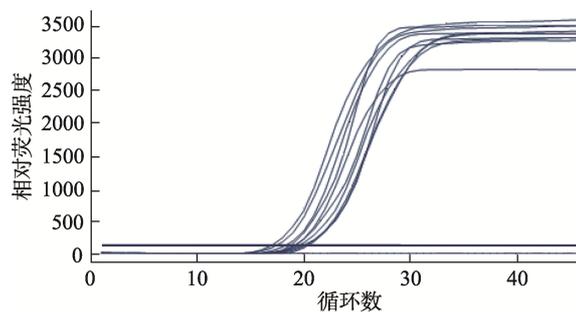


图 3 大豆成分 LAMP 检测稳定性实验

Fig.3 Stability experiment of soybean component by LAMP assay

表 3 LAMP 和实时荧光定量 PCR 检测植物蛋白饮料中大豆成分结果

Table 3 Results of LAMP and real-time fluorescent quantitative PCR detection of soybean components in vegetable protein beverages

序号	标示成分	LAMP	实时荧光定量 PCR	序号	标示成分	LAMP	实时荧光定量 PCR
1	杏仁	-	-	17	榛子	-	-
2	杏仁	-	-	18	杏仁	-	-
3	大豆、花生、芝麻	+	+	19	花生	-	-
4	杏仁	-	-	20	大豆	+	+
5	大豆、杏仁、核桃、榛子、花生	+	+	21	大豆	+	+
6	核桃、花生	-	-	22	核桃、花生、芝麻	+	+
7	花生	-	-	23	核桃、花生、芝麻	-	-
8	核桃、花生	-	-	24	大豆	+	+
9	核桃	-	-	25	大豆、芝麻	+	+
10	大豆	+	+	26	杏仁	-	-
11	花生	-	-	27	榛子	-	-
12	大豆、芝麻	+	+	28	扁桃	-	-
13	大豆	+	+	29	巴旦木	-	-
14	核桃、榛子、花生	-	-	30	芝麻	-	-
15	花生	-	-	31	芝麻	-	-
16	大豆、核桃、花生、芝麻	+	+	32	大豆	+	+

注: +表示检出大豆成分,-表示未检出大豆成分。

表 4 LAMP 荧光扩增检测植物蛋白饮料大豆成分数据统计分析结果

Table 4 Statistical analysis results of soybean component data of vegetable protein beverages detected by LAMP fluorescence amplification

LAMP 荧光方法	实时荧光 PCR 方法		合计
	阳性	阴性	
阳性	12	0	12
阴性	0	20	20
合计	12	20	32

3 结论与展望

本研究设计了大豆成分 LAMP 检测的特异性引物和反应体系, 经过多种不同的植物成分进行特异性验证, 证实了该方法具有较高的特异性, 并验证了方法的灵敏度可达 0.1%(以质量分数计), 方法稳定性较好。同时以实时荧光定量 PCR 为标准参比方法, 使用多种不同类型及品牌的植物蛋白饮品为测试对象, 得出方法灵敏度和特异性为 100%, 无假阳性和假阴性。本方法对基质抗干扰能力强、快速稳定、对仪器要求较低, 适用于在基层及现场对不同基质植物蛋白饮品大豆成分快速定性检测。目前市售植物蛋白饮料品种繁多, 蛋白来源成分复杂, 为了能准确高效甄别产品掺杂掺假, 快速检测鉴定其蛋白源成分及含量非常必要, 该研究可进一步开发植物蛋白饮料中其他成分的 LAMP 快速检测方法, 完善植物蛋白饮料掺伪掺假快速筛查技术, 为规范植物蛋白饮料的行业秩序提供技术保障。

参考文献

- [1] 刘可心, 马懿欣, 董逸然, 等. 植物蛋白饮料市场分析及建议[J]. 现代食品, 2021, (6): 31-33.
LIU KX, MA YOU, DONG YR, *et al.* Market analysis and suggestions of plant protein beverage [J]. Mod Food, 2021, (6): 31-33.
- [2] 石丹, 李洲. 我国饮料产业发展现状与趋势[J]. 食品与发酵科技, 2020, 56(4): 69-74.
SHI D, LI Z. The development status and trend of beverage industry in China [J]. Food Ferment Sci Technol, 2020, 56(4): 69-74.
- [3] 张淑霞, 李珂, 祝伟霞, 等. 我国植物蛋白饮料掺假检测技术研究现状[J]. 粮食与食品工业, 2020, 27(1): 55-59.
ZHANG SX, LI K, ZHU WX, *et al.* Research status of adulteration detection technology for plant protein beverages in China [J]. Cere Food Ind, 2020, 27(1): 55-59.
- [4] 赵益菲, 布冠好, 左颖昕. 植物蛋白过敏原及其物理脱敏方法的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2017, 30(5): 8-11.
ZHAO YF, BU GH, ZUO YX. Research progress of plant protein allergens and physical methods of reducing allergenicity [J]. J Cere Oils, 2017, 30(5): 8-11.
- [5] 韩晴, 王赞, 章晶晶, 等. 基于植物 DNA 条形码技术对杏仁露中花生源性成分的鉴别研究[J]. 现代食品科技, 2018, 34(2): 232-240.
HAN Q, WANG Z, ZHANG JJ, *et al.* Identification of peanuts in almond juice based on plant DNA barcode technology [J]. Mod Food Sci Technol, 2018, 34(2): 232-240.
- [6] 杨硕, 李诗瑶, 王鸣秋, 等. 市售椰子汁(植物蛋白饮料)中椰子、大豆、花生源性成分鉴定的分子生物学方法[J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37(10): 4511-4517.
YANG S, LI SY, WANG MQ, *et al.* Digital droplet PCR for the determination of peanut and soybean-derived component in coconut protein drink [J]. Genom Appl Biol, 2018, 37(10): 4511-4517.
- [7] 张淑霞, 祝伟霞, 刘胜男, 等. 基于 HPLC-Q-Exactive 的 PRM 技术检测核桃露中核桃、杏仁、花生、大豆源性成分[J]. 食品科技, 2020, 45(9): 273-280.
ZHANG SX, ZHU WX, LIU SN, *et al.* Detection of walnut, almond, peanut and soybean derived ingredients in walnut drink based on HPLC-Q-Exactive with parallel reaction monitoring mode [J]. Food Sci Technol, 2020, 45(9): 273-280.
- [8] NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification of DNA [J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28(12): E63.
- [9] KIM MJ, KIM HY. Direct duplex real-time loop mediated isothermal amplification assay for the simultaneous detection of cow and goat species origin of milk and yogurt products for field use [J]. Food Chem, 2018, 246: 26-31.
- [10] 陈珍金, 张璜, 石磊, 等. 利用 LAMP 技术快速检测羊肉制品中的鼠源性成分[J]. 食品科学, 2021, 42(12): 322-327.
CHEN ZJ, ZHANG H, SHI L, *et al.* Rapid detection of murine-derived components in mutton products using LAMP technology [J]. Food Sci, 2021, 42(12): 322-327.
- [11] 柳毅, 尹斯雅. 食品中驴源性成分环介导等温扩增检测方法的建立[J]. 食品工业, 2020, 41(2): 288-292.
LIU Y, YIN SY. Establishment of loop-mediated isothermal amplification method for detection of donkey components in foods [J]. Food Ind, 2020, 41(2): 288-292.
- [12] 梁晋刚, 杜再慧, 黄春蒙, 等. 环介导等温扩增技术在转基因作物成分检测中的应用[J]. 中国油料作物学报, 2021, 43(1): 51-55.
LIANG JG, DU ZH, HUANG CM, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification technology in the detection of genetically modified crops [J]. Chin J Oil Crop Sci, 2021, 43(1): 51-55.
- [13] LONG LK, YAN W, LI CC, *et al.* Rapid visual detection of four specific transgenic events in gm soybean using loop-mediated isothermal amplification method [J]. Russ J Plant Physiol, 2019, 66(4): 646-655.
- [14] 徐文文, 宋惠月, 梁玉林, 等. 环介导等温扩增技术检测不同乳制品常见食源性致病菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(2): 546-551.
XU WW, SONG HY, LIANG YL, *et al.* Detection of common food borne pathogens in different dairy products by loop-mediated isothermal amplification [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(2): 546-551.
- [15] 徐晓可, 郭卉, 邓梅清, 等. 基于环介导等温扩增技术的产呕吐毒素蜡样芽孢杆菌特异性检测[J]. 现代食品科技, 2021, 37(1): 223-228.
XU XK, GUO H, DENG MQ, *et al.* Specific detection of emetic *Bacillus cereus* in foods by loop mediated isothermal amplification (LAMP) method [J]. Mod Food Sci Technol, 2021, 37(1): 223-228.
- [16] VO DT, STORY MD. Facile and direct detection of human papillomavirus (HPV) DNA in cells using loop-mediated isothermal amplification (LAMP)

- [J]. *Mol Cell Probes*, 2021, 59: 1–5.
- [17] 刘津, 陈源树, 凌莉, 等. 食品过敏原巴西坚果环介导等温扩增检测方法的建立与应用[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(14): 76–80.
- LIU J, CHEN YS, LING L, *et al.* Construction and application of loop-mediated isothermal amplification method for detection of Brazil nut as a food allergen [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2014, 35(14): 76–80.
- [18] 梁美丹, 肖剑, 陈楷, 等. 磁珠法提取植物蛋白饮料 DNA[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(13): 5363–5368.
- LIANG MD, XIAO J, CHEN K, *et al.* Extraction of plant protein beverage DNA by magnetic beads [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(13): 5363–5368.
- [19] 李宏, 雷质文. 食品微生物检测方法确认和证实手册[M]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- LI H, LEI ZW. *Handbook of validation and confirmation of food microbiological methods* [M]. Beijing: China Standard Publishing House, 2013.
- [20] 魏晓璐, 黄鑫, 冯悦, 等. 核桃乳(露)饮品中花生、大豆成分的 PCR 检测方法[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(13): 288–295.

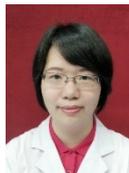
WEI XL, HUANG X, FENG Y, *et al.* Detection of peanut and soybean in walnut milk using PCR [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2014, 35(13): 288–295.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



肖 剑, 高级工程师, 主要研究方向为食品微生物及分子生物学检测技术。
E-mail: xjq521@163.com



梁美丹, 工程师, 主要研究方向为食品微生物及分子生物学检测技术。
E-mail: meidanamy@126.com